



⑮ **BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT**

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑩ **DE 199 57 388 A 1**

⑤① Int. Cl.<sup>7</sup>:  
**C 12 N 11/02**

②① Aktenzeichen: 199 57 388.3  
②② Anmeldetag: 24. 11. 1999  
④③ Offenlegungstag: 13. 6. 2001

**DE 199 57 388 A 1**

⑦① Anmelder:  
Sittinger, Michael, Dr., 12349 Berlin, DE; Schultz,  
Olaf, Dr., 10119 Berlin, DE

⑦④ Vertreter:  
Wehlan, H., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat., Pat.-Anw.,  
10315 Berlin

⑦② Erfinder:  
Sittinger, Michael, Priv.-Doz. Dr., 12349 Berlin, DE;  
Schultz, Olaf, Dr., 10119 Berlin, DE; Burmester,  
Gerd-Rüdiger, Prof. Dr., 12277 Berlin, DE

**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen**

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤④ Chondroinduktive und implantierbare Substrate zur Knorpelheilung und -protektion

⑤⑦ Die Erfindung betrifft chondroinduktive und implantierbare Substrate zur Knorpelheilung und -protektion bei Arthrose. Dabei bezieht sie sich auf Systeme und Hilfsmittel zur Aktivierung ortsständiger mesenchymaler Zellen zur Geweberegeneration. Dazu werden zunächst feine Verbindungen zwischen Gelenkraum und Knochenmarkraum hergestellt. Danach wird die Gelenkfläche mit mehrschichtigen Materialien abgedeckt, die ein Einwachsen und Reifen von Knorpelvorläuferzellen aus dem Knochenmark induzieren.

**DE 199 57 388 A 1**

## Beschreibung

Die Erfindung betrifft chondroinduktive und implantierbare Substrate zur Knorpelheilung und -protektion bei Arthrose. Dabei bezieht sie sich auf Systeme und Hilfsmittel zur Aktivierung ortsständiger mesenchymaler Zellen zur Geweberegeneration. Dazu werden zunächst feine Verbindungen zwischen Gelenkraum und Knochenmarkraum hergestellt. Danach wird die Gelenkfläche mit mehrschichtigen Materialien abgedeckt, die ein Einwachsen und Reifen von Knorpelvorläuferzellen aus dem Knochenmark induzieren.

## Arthrose

Die Osteoarthritis ist die häufigste Gelenkerkrankung weltweit, die Mehrzahl aller Menschen im Alter über 65 sind davon betroffen. Daraus ergibt sich zwangsläufig eine enorme klinische, gesundheitspolitische und volkswirtschaftliche Relevanz. Im Verlauf dieser primär degenerativen altersabhängigen Gelenkerkrankung kommt es zu einer schrittweisen fokalen Zerstörung der Gelenkoberfläche und einem reaktiven fehlregulierten regionalen Wachstum der angrenzenden und subchondralen Knochenstrukturen (Osteophyten). Folge sind Schmerzen und eingeschränkte Funktion und Beweglichkeit. Systemische Faktoren, die die Entstehung einer Osteoarthritis beeinflussen, sind Alter, Geschlecht, Gewicht, Osteoporose, eine familiäre Vorbelastung und mechanische Überbeanspruchung, während lokale Faktoren die spezifische Gelenkform, Fehlstellungen, Traumen sowie speziell einwirkende biomechanische Faktoren einschließen. Trotz der eigentlichen degenerativen Genese kommt es auch bei der Osteoarthritis zu entzündlichen Veränderungen wie einer Synovitis (Entzündung der Gelenkinnenhaut) und Produktion von entzündungsfördernden biologischen Botenstoffen (Zytokinen und Wachstumsfaktoren). Die ablaufenden Veränderungen stellen eine Fehlregulation der Gewebeshomeostase im Bereich der lasttragenden Knorpel- und Knochenstrukturen dar, eine Dysbalance zwischen degenerativen und reparativen Prozessen (WB von den Berg: The role of cytokines and growth factors in cartilage destruction in osteoarthritis. *Z Rheumatol* 58: 136–141, 1999).

Die Erkrankung ist dabei Folge von Störungen im Bereich des gesamten Gelenkes einschließlich des Knochens, der Muskulatur und der Gelenkinnervation, die letztlich zu einer mechanischen Überbeanspruchung und biochemisch vermittelten Zerstörung der betroffenen Gelenke führt. Von Bedeutung ist weiterhin, daß es keine Heilung dieser Erkrankung gibt: Physiotherapeutische Maßnahmen und schmerzlindernde, entzündungshemmende Medikamente (nichtsteroidale Antirheumatika) sind häufig unzureichende symptomatische Therapien. Konventionelle orthopädische Verfahren (Debridement, Gelenkshaving, microfracture, drilling) sind ebenfalls nur unzureichend wirksam, bei ausgeprägten Veränderungen bleibt häufig nur der operativ-rekonstruktive Eingriff mit endoprothetischem Gelenkersatz (JA Buckwalter, HJ Mankin: Articular Cartilage Repair and Transplantation: Arthritis & Rheumatism 41: 1131–1342, 1998).

## Knorpelregeneration durch Tissue Engineering mit Zellen und Wachstumsfaktoren

Vielversprechende neue Technologien bietet das Tissue Engineering durch eine Transplantation funktionell aktiver autologer Zellen und ggf. formgebenden Biomaterialien. Mit Hilfe dieser Technologie wird neues Knorpel- und Knorpelgewebe aktiv aufgebaut bzw. gezüchtet.

Das Tissue Engineering basiert normalerweise auf der Vermehrung autologer Zellen, die anschließend dem Patienten z. B. in Form einer Lösung oder als ausgereiftes Transplantat wieder in den Patienten transplantiert werden. Leider ist das Proliferationspotential der Zellen begrenzt, und eine Vermehrung über viele Zellpassagen in vitro reduziert wesentlich die funktionale Qualität der Zellen. Daher basiert diese Erfindung auf der Nutzung von pluripotenten Vorläuferzellen oder auch mesenchymaler Stammzellen für die Geweberegeneration. Deren Potential zur Proliferation und Differenzierung ist deshalb von besonderem Interesse für die Knorpel- oder auch Knochenheilung.

Vorläufer und Stammzellen können im Prinzip vergleichbar den adulten Zellen eingesetzt werden. Dabei kann man das Differenzierungsverhalten unter Einfluss verschiedener morphogener Faktoren z. B. der FGF (fibroblast growth factor) oder TGF- $\beta$  (transforming growth factor beta)-Superfamilie unter definierten Kulturbedingungen beeinflussen (US-Patent 5817773).

Ein weiterer Ansatz im Tissue Engineering besteht darin, die Geweberegeneration insgesamt oder zumindest die Differenzierung der Zellen z. B. durch Zusatz von Wachstumsfaktoren zu stimulieren. Hierbei sind insbesondere Faktoren der TGF- $\beta$ -Superfamilie interessant, da sie bei der Entwicklung von Geweben und Organen eine zentrale Rolle spielen. Für das Tissue Engineering gibt es dabei sehr verschiedene Prinzipien, diese Faktoren einzusetzen. So können beispielsweise in einen Teil der Zellen Gene der TGF- $\beta$ -Familie eingeschleust werden, um die Ausreifung zu verbessern, aber auch um das Gewebe z. B. in einem chronisch entzündeten Gelenk vor erneuter Zerstörung zu schützen [(Evans CH, Robbins PD: Gene therapy for arthritis. *Gene therapeutics: Methods and applications of direct gene transfer*. Edited by JA Wolff. Boston, Birkhäuser, 321, (1994); Kalden JR, Geiler T, Herrmann M, Bertling W: Gentherapie der rheumatoiden Arthritis – ein bereits anwendbares Therapieprinzip? – *Z. Rheumatol*, 57 : 139–47, (1998); Herndon JH, Robbins PD, Evans CH: Arthritis: is the cure in your genes? *J Bone Joint Surg Am*, 81: 152–7, (1999).

Eine weitere Möglichkeit besteht in der Verwendung von Release-Systemen (US 5910489), also der vorübergehenden Freisetzung von Faktoren aus resorbierbaren Mikropartikeln oder Zellträgern, um z. B. ein Transplantat während der kritischen Phase der Einheilung zu stabilisieren. Schließlich kann auch die direkte Geweberegeneration ohne Zellen ausschließlich durch Wachstumsfaktoren und Biomaterialien angewandt werden [Kübler, Osteoinduktion und -reparation. *Mund-Kiefer-Gesichtschir.*, 1, 2–25, (1997)].

Durch die Entdeckung und Charakterisierung von immer neuen Faktoren, die Ausreifung und Differenzierung von Körperzellen beeinflussen können, stehen zunehmend Werkzeuge zur Verfügung, die die Herstellung eines vollwertigen Ersatzknorpels oder -knochens ausgehend von nur wenigen autologen Zellen ermöglichen.

Größter Nachteil dieser Technologie ist jedoch die Notwendigkeit, dem Patienten zunächst eine Gewebeprobe zu entnehmen und die vergleichsweise aufwendige Kultivierung der Zellen.

## Stammzellrekrutierung, Wachstumsfaktoren

Bei einer natürlichen Gewebeheilung werden normalerweise Zellen aus der Umgebung des Defekts oder der Verletzung angelockt, um die Läsion zu füllen. Dabei handelt es sich hauptsächlich um Vorläuferzellen, die sich erst im weiteren Verlauf durch Differenzierung zu den Gewbezellen mit den jeweiligen typischen Eigenschaften entwickeln. So wandern bei einer Knochenfraktur Vorläuferzellen aus der

Knochenhaut und aus dem Knochenmark in den Defekt und bilden über den Umweg eines Knorpelkallusgewebes neue Knochen. Eine natürliche Knorpelregeneration durch einwandernde Vorläuferzellen funktioniert beim Menschen praktisch nicht. Bestimmte Behandlungstechniken wie die Micro-Fracture Verfahren zielen jedoch darauf ab, Zellen aus dem Knochenmark den Weg in den Gelenkraum zu eröffnen.

Auf dem Gebiet der Knorpelheilung sind auch bioaktive Substanzen entwickelt worden, die chemotaktische, antiinflammatorische, antiangiogenetische, differenzierende oder antiadhäsive Eigenschaften aufweisen (US 5853746: Methods and compositions for the treatment and repair of defects or lesions in cartilage or bone using functional barrier; US 5817773: Stimulation, production, culturing and transplantation of stem cells by fibroblast growth factors; US 5910489: Topical composition containing hyaluronic acid and NSAIDs).

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Substrat zu entwickeln, das sich bei der Knorpelheilung einsetzen läßt. Die Aufgabe wurde durch die Bereitstellung chondroinduktiver und implantierbarer Substrate zur Knorpelheilung und -protektion bei Arthrose gelöst. Gemäß dieser Erfindung werden Systeme und Hilfsmittel zur Aktivierung ortsständiger mesenchymaler Zellen zur Geweberegeneration bereitgestellt. Dazu werden zunächst feine Verbindungen zwischen Gelenkraum und Knochenmarkraum hergestellt. Danach wird die Gelenkfläche mit mehrschichtigen Materialien abgedeckt, die ein Einwachsen und Reifen von Knorpelvorläuferzellen aus dem Knochenmark induzieren.

Überraschenderweise ist es gelungen, Hilfsmittel zur Verfügung zu stellen, mit denen das Einwachsen von Gewebivorläuferzellen aus den umliegenden Geweben – beim Gelenkknorpel also aus dem Knochenmark oder Synovium – induziert und kontrolliert werden kann. Die Hilfsmittel enthalten insbesondere chemotaktische und differenzierende Faktoren und beinhalten geeignete Strukturen für die Zelleinwanderung in vivo, für die Zellmatrixbildung und für die Freisetzung von Faktoren. Die eingebrachte Substanz kann z. B. eine streichbare bzw. klebende "Zell-Lockpaste" oder eine Art "bioaktives Knorpelpflaster" sein.

Die vorliegende Erfindung umfaßt chondroinduktive und implantierbare Substrate zur Knorpelheilung und -protektion (Fig. 1), die aus Systemen und aus Mitteln zur Aktivierung ortsständiger Zellen zur Geweberegeneration sowie aus Strukturen für die Zelleinwanderung, Zellmatrixbildung und für die Freisetzung chemotaktischer und differenzierender Faktoren bestehen. Die erfindungsgemäßen Systeme eignen sich zur Mobilisierung, Aktivierung und zum Anlocken autologer mesenchymaler Zellen, Progenitorzellen und Stammzellen. Sie beruhen darauf, daß Verbindungen zwischen Gelenkraum und Knochenmarkraum in Gestalt multipler feiner Bohrungen/Kanäle hergestellt werden.

Die erfindungsgemäßen Mittel, mit denen das Einwachsen von Gewebivorläuferzellen aus den umliegenden Geweben induziert und kontrolliert wird, enthalten chemotaktische und differenzierende Faktoren und Strukturen für die Zellmatrixbildung. Durch diese Mittel, die in mehrschichtigen Materialien zum Abdecken einer Gelenkfläche eingesetzt werden, läßt sich ein Einwachsen und Reifen von Knorpelvorläuferzellen aus dem Knochenmark induzieren.

Die erfindungsgemäßen Strukturen für die Zelleinwanderung, Zellmatrixbildung und Freisetzung chemotaktischer und differenzierender Faktoren bestehen aus Hydrogelen, Schwämmen (z. B. aus Kollagen), Wolle/Watte aus Polysacchariden (z. B. Cellulose-Wolle, Cellulose-Watte), aus natürlichen oder synthetischen Polypeptiden (Fibrin, Polylysin), Geflechten/gewebten Strukturen aus Fasern (z. B. re-

sorbierbaren Polymeren), aus Klebepasten (z. B. Acrylatkleber), Klebefolien (z. B. fibrinogenbeschichteter Hyaluronsäurefolie) oder aus Unterstrukturen oder Kombinationen dieser Strukturen oder mit den Unterstrukturen.

Die Unterstrukturen, die bioaktive Substanzen speichern und freisetzen können, bestehen aus Schichten, Tröpfchen/Kügelchen oder Oberflächenbeschichtungen.

Die mehrschichtigen Materialien (Abdeckschicht) bestehen aus wolleartigen Polymerkonstrukten wie Polyglykolid, kombiniert mit Hyaluronsäure und chemotaktischen Wachstumsfaktoren wie Osteopontin, die über die Gelenkfläche mit Fibrin- oder Acrylatkleber geklebt und angepasst werden. Die Fibrinkleber sind mit gespeicherten chemotaktischen Wachstumsfaktoren (cartilage derived morphogenetic protein oder connective tissue growth factor) versehen. Sie werden über die Gelenkfläche gestrichen und mit Thrombin zu einem artifiziellen Superglott verfestigt.

Die erfindungsgemäßen Substrate können über resorbierbare oder über nichtresorbierbare Eigenschaften verfügen. Substrate mit resorbierbaren Eigenschaften bestehen aus Hyaluronsäuren, Poly-a-Hydroxysäuren, Kollagenen, Alginaten, Agarosen, Fibrinen, Biogläsern oder ihren Kombinationen, Substrate mit nichtresorbierbaren Eigenschaften aus Keramiken oder aus Kombinationen von Keramiken mit den Substraten, die resorbierbare Eigenschaften aufweisen.

Die erfindungsgemäßen Substrate sind ferner dadurch gekennzeichnet, daß sie biologisch aktive Faktoren enthalten oder freisetzen, insbesondere

- Wachstums- und Differenzierungsfaktoren (TGFβ-Superfamilie, FGF-Familie, PDGF – platelet derived growth factor, IGF – insulin like growth factor, EGF – epidermal growth factor)
- zelluläre Adhäsionsmoleküle (Integrine, CD44 – cluster of differentiation, Selektine, Proteoglykane, synthetische Peptide wie RGD-Sequenzen – Arginin-Glycin-Asparaginsäure)
- Zytokine, chemotaktische Faktoren (CDMP – cartilage derived morphogenetic protein, CTGF – connective tissue growth factor, Osteopontin, NO-Synthase-Hemmer) oder
- extrazelluläre Matrixkomponenten (Proteoglykane, Fibronektin, Kollagen).

Die erfindungsgemäßen Substrate sind des weiteren dadurch gekennzeichnet, daß sie Enzyme oder deren Vorstufen (Proteasen, Metalloproteinasen, Cathepsine), Hemmstoffe von Enzymen (TIMP – tissue inhibitor of metallo proteinases, Antikörper und synthetische Blocker des katalytischen Zentrums) freisetzen. Dabei kann die Freisetzung von zwei oder mehreren bioaktiven Substanzen gleichzeitig oder sequentiell sowie aus zwei oder mehreren Phasen/Komponenten/Schichten des Substrats erfolgen.

Die erfindungsgemäßen Substrate bestehen aus Phasen unterschiedlicher Degradations- und mechanischen oder biophysikalischen Eigenschaften, wie Schwämme, Gels, Beads, Membranen, Gitter, Watten, Beutel/Kissen oder Flüssigkeiten.

In die Substrate lassen sich bioaktive Substanzen in einen artifiziellen Superglott nach Microfracture-Behandlung einbringen.

Die Induzierbarkeit des Systems und die Faktorenfreisetzung erfolgen von außen – durch Magnetfelder, elektrische Impulse wie Strom oder Spannung, Bewegung oder Substanz-Injektion.

In einer besonderen Ausgestaltungform werden die mehrschichtigen Materialien zur Abdeckung der Gelenkfläche unterseitig mit Pins, Hohlstiften/-nadeln kombiniert oder

mit Verankerungsstrukturen versehen. Sie können ferner so ausgebildet sein, daß sie unterseitig knorpelverdauende Enzyme – Metalloproteinasen, Hyaluronidase, Cathepsine – freisetzen. Die Pins, Hohlnadeln oder Verankerungsstrukturen sind vorzugsweise resorbierbar ausgebildet. Die erfindungsgemäßen Substrate werden nach Erstellen von Kanälen in den subchondralen Raum – Mikrofrakturen, Bohrungen, Stiche – eingesetzt. Die Verbindungskanäle/Bohrungen zwischen Markraum und Gelenkraum selbst lassen sich durch ein Nagelgitter herstellen, zweckmäßigerweise durch eine klettverschlußartige Verankerungsstruktur mit dem darunterliegenden Nagelgitter.

Die erfindungsgemäßen implantierbaren Substrate sind mit den Fähigkeiten ausgestattet, autologe mesenchymale Zellen, Progenitorzellen und/oder Stammzellen zu mobilisieren, zu aktivieren und/oder anzulocken und diese Zellen zur Proliferation, Differenzierung und/oder Maturation anzuregen. In die Zellen lassen sich Gene der genannten bioaktiven Faktoren transfizieren.

Die erfindungsgemäßen Substrate weisen formbare, streichbare oder pastenartige Eigenschaften mit elastischen oder plastischen mechanischen Eigenschaften auf.

Das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung chondroinduktiver und implantierbarer Substrate zur Knorpelheilung und -protektion besteht darin, daß Systeme und Mittel zur Aktivierung ortsständiger Zellen zur Geweberegeneration sowie Strukturen für die Zelleinwanderung, Zellmatrixbildung und Freisetzung chemotaktischer und differenzierender Faktoren eingesetzt werden. Dieses Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, daß Verbindungskanäle zwischen Gelenkraum und Knochenmarkraum hergestellt, eine klebrige knorpelfreundliche Schicht auf den arthrotischen Gelenkknorpel gebracht, Zellen aus dem Knochenmark angelockt und in einer temporären nährenden sowie fördernden Umgebung in der aufgeklebten Schicht zu Knorpelgewebe entwickelt werden. Dabei werden Systeme in Gestalt von Verbindungskanälen zwischen Gelenkraum und Knochenmarkraum als multiple feine Bohrungen/Kanäle eingesetzt, mit denen das Einwandern von Gewebevorläuferzellen aus den umliegenden Geweben induziert und Strukturen für die Zellmatrixbildung ermöglicht werden. Zu dem Verfahren gehört, dass Mittel eingesetzt werden, mit denen eine Gelenkfläche mit mehrschichtigen Materialien abgedeckt wird, die ein Einwachsen und Reifen von Knorpelvorläuferzellen aus dem Knochenmark induzieren.

Die Merkmale der Erfindung gehen außer aus den Ansprüchen auch aus der Beschreibung hervor, wobei die einzelnen Merkmale jeweils für sich allein oder zu mehreren in Form von Kombinationen vorteilhafte schutzfähige Ausführungen darstellen, für die mit dieser Schrift Schutz beantragt wird. Die Kombination besteht aus bekannten (mesenchymale Zellen, Progenitorzellen, Stammzellen/Vorläuferzellen aus dem Knochenmark, bioaktive Faktoren) und neuen Elementen (Verbindungskanäle zwischen Markraum und Gelenkraum; mehrschichtige Materialien zur Abdeckung der Gelenkfläche, die ein Einwachsen und Reifen von Knorpelvorläuferzellen aus dem Knochenmark induzieren; artifizieller Superglott), die sich gegenseitig beeinflussen und in ihrer neuen Gesamtwirkung einen Vorteil (synergistischen Effekt) und den erstrebten Erfolg ergeben, der darin liegt, dass sich nunmehr Zellen aus dem Knochenmark anlocken lassen und in den mehrschichtigen Materialien zur Abdeckung der Gelenkfläche zu Knorpelgewebe entwickeln.

Die erfindungsgemäße Verwendung der Substrate besteht in ihrem Einsatz in der operativen Medizin und im Tissue Engineering, insbesondere bei der Knorpelheilung und -protektion bei Arthrose sowie in ihrem Einsatz zur Proliferation, Differenzierung und Maturation von Zellen.

Die Erfindung soll anhand von Ausführungsbeispielen näher erläutert werden, ohne auf diese Beispiele beschränkt zu sein.

## Ausführungsbeispiele

### Beispiel 1

Zur Behandlung einer ausgeprägt arthrotisch deformierten Gelenkoberfläche werden zunächst durch multiple feine Bohrungen (1–2 mm) kleine Verbindungen zwischen dem Knochenmarkraum und der Gelenkhöhle hergestellt. Anschließend wird ein wolleartiges Polymerkonstrukt (Polyglykolid) kombiniert mit Hyaluronsäure und chemotaktischen Wachstumsfaktoren (Osteopontin) über die Gelenkfläche mit Fibrin- oder Acrylatkleber geklebt und angepasst.

### Beispiel 2

Zur Behandlung der Gelenkfläche aus Beispiel 1 wird nach Herstellen der Öffnungen in den Markraum Fibrinkleber mit gespeicherten chemotaktischen Wachstumsfaktoren (cartilage derived morphogenetic protein oder connective tissue growth factor) über die Gelenkfläche gestrichen und mit Thrombin verfestigt (artifizieller Superglott).

## Abkürzungsverzeichnis

CD44 – cluster of differentiation 44  
CDMP – cartilage derived morphogenetic protein  
CTGF – connective tissue growth factor  
EGF – epidermal growth factor  
FGF – fibroblast growth factor  
IGF – insulin like growth factor  
NO-Synthase-Hemmer – Stickoxid-Synthase-Hemmer  
NSAID – non-steroidal-antiinflammatorydrugs  
PDGF – platelet derived growth factor (von Thrombozyten gebildeter Wachstumsfaktor)  
RGD-Sequenzen – Arginin-Glycin-Asparaginsäure-Sequenzen  
PVC – Polyvinylchlorid  
TGF- $\beta$  Superfamilie – transforming growth factor beta superfamily  
TIMP – tissue inhibitor of metallo proteinases

## Figur

**Fig. 1** zeigt das erfindungsgemäße Substrat.

## Bezugszeichenliste

- 1 aufgebrachte Substanz
- 2 Verbindungskanäle zum Knochenmark
- 3 Wanderung der Vorläuferzellen aus dem Knochenmark
- 4 Freisetzung bioaktiver Faktoren
- 5 mesenchymale Zellen, ggf. gentechnisch modifiziert
- 6 Partikel mit bioaktiven Faktoren
- 7 Abdeckschicht
- 8 Schicht mit differenzierenden bzw. gewebebildenden Faktoren
- 9 Schicht mit chemotaktischen Faktoren

## Patentansprüche

1. Chondroinduktive und implantierbare Substrate zur Knorpelheilung und -protektion, bestehend aus Systemen und aus Mitteln zur Aktivierung ortsständiger Zellen zur Geweberegeneration sowie aus Strukturen für

- die Zelleinwanderung in vivo, für die Zellmatrixbildung und für die Freisetzung chemotaktischer und differenzierender Faktoren.
2. Substrate nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch Systeme zur Mobilisierung, Aktivierung und zum Anlocken autologer mesenchymaler Zellen, Progenitorzellen und Stammzellen, die darin bestehen, Verbindungen zwischen Gelenkraum und Knochenmarkraum in Gestalt multipler feiner Bohrungen/Kanäle herzustellen. 5
3. Substrate nach den Ansprüchen 1 und 2, gekennzeichnet durch Mittel, mit denen das Einwandern von Gewebevorläuferzellen aus den umliegenden Geweben induziert und kontrolliert wird, enthaltend chemotaktische und differenzierende Faktoren und Strukturen für die Zellmatrixbildung. 10
4. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 3, gekennzeichnet durch Mittel, mit denen eine Gelenkfläche mit mehrschichtigen Materialien abgedeckt wird, die ein Einwachsen und Reifen von Knorpelvorläuferzellen aus dem Knochenmark induzieren. 20
5. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Strukturen für die Zelleinwanderung, Zellmatrixbildung und Freisetzung chemotaktischer und differenzierender Faktoren aus 25
- 5.1. Hydrogelen
  - 5.2. Schwämmen, Kollagen-Schwämmen
  - 5.3. Wolle/Watte aus Polysacchariden, Cellulose-Wolle, Cellulose-Watte
  - 5.4. natürlichen oder synthetischen Polypeptiden, Fibrin, Polylysin 30
  - 5.5. Geflechtes/gewebten Strukturen aus Fasern, resorbierbaren Polymeren
  - 5.6. Klebepasten, Acrylatkleber, Klebefolien, fibrinogenbeschichteter Hyaluronsäurefolie oder 35
  - 5.7. Unterstrukturen oder aus
  - 5.8. Kombinationen dieser Strukturen oder mit Unterstrukturen
- bestehen.
6. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 5, gekennzeichnet durch Unterstrukturen, die bioaktive Substanzen speichern und freisetzen können, bestehend aus
- 6.1. Schichten,
  - 6.2. Tröpfchen/Kügelchen oder
  - 6.3. Oberflächenbeschichtungen. 45
7. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 6 mit mehrschichtigen Materialien nach Anspruch 4, gekennzeichnet durch wolleartige Polymerkonstrukte wie Polyglykolid, kombiniert mit Hyaluronsäure und chemotaktischen Wachstumsfaktoren wie Osteopontin, die über die Gelenkfläche mit Fibrin- oder Acrylatkleber geklebt und angepasst werden. 50
8. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß Fibrinkleber mit gespeicherten chemotaktischen Wachstumsfaktoren (cartilage derived morphogenetic protein oder connective tissue growth factor) über die Gelenkfläche gestrichen und mit Thrombin zu einem artifiziellen Superglott verfestigt werden. 55
9. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 8 mit resorbierbaren Eigenschaften, bestehend aus Hyaluronsäuren, Poly-a-Hydroxysäuren, Kollagenen, Alginaten, Agarosen, Fibrinen, Biogläsern oder ihren Kombinationen. 60
10. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 8 mit nichtresorbierbaren Eigenschaften, bestehend aus Keramiken oder aus Kombinationen von Keramiken mit den Substraten nach Anspruch 9. 65

11. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß sie biologisch aktive Faktoren enthalten oder freisetzen.
12. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß sie als biologisch aktive Faktoren enthalten oder freisetzen
- 12.1. Wachstums- und Differenzierungsfaktoren – TGF-Superfamilie, FGF-Familie, PDGF, IGF, EGF
  - 12.2. zelluläre Adhäsionsmoleküle – Integrine, CD44, Selektine, Proteoglykane, synthetische Peptide wie RGD-Sequenzen
  - 12.3. Zytokine
  - 12.4. chemotaktische Faktoren – CDMF, CTGF, Osteopontin, NO-Synthetase-Hemmer oder
  - 12.5. extrazelluläre Matrixkomponenten – Proteoglykane, Fibronektin, Kollagen.
13. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß sie Enzyme oder deren Vorstufen – Proteasen, Metalloproteinasen, Cathepsine – freisetzen.
14. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß sie Hemmstoffe von Enzymen – TIMP, Antikörper oder synthetische Blocker des katalytischen Zentrums – freisetzen.
15. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß die Freisetzung von zwei oder mehreren bioaktiven Substanzen nach den Ansprüchen 10 bis 14 gleichzeitig oder sequentiell erfolgt.
16. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß die Freisetzung von zwei oder mehreren bioaktiven Substanzen aus zwei oder mehreren Phasen/Komponenten/Schichten des Substrats erfolgen.
17. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß sie aus Phasen unterschiedlicher Degradations- und mechanischen oder biophysikalischen Eigenschaften – Schwämme, Gels, Beads, Membranen, Gitter, Watten, Beutel/Kissen, Flüssigkeiten – bestehen.
18. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß die bioaktiven Substanzen nach den Ansprüchen 11 bis 16 in einen artifiziellen Superglott nach Microfracture-Behandlung eingebracht werden.
19. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 18, dadurch gekennzeichnet, daß die Induzierbarkeit des Systems und die Faktorenfreisetzung von außen – durch Magnetfelder, elektrische Impulse wie Strom oder Spannung, Bewegung oder Substanz-Injektion – erfolgen.
20. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 19, dadurch gekennzeichnet, daß die mehrschichtigen Materialien zur Abdeckung der Gelenkfläche unterseitig kombiniert mit Pins, Hohlstiften/-nadeln oder Verankerungsstrukturen versehen werden.
21. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 20, dadurch gekennzeichnet, daß die Pins, Hohlstiften oder Verankerungsstrukturen nach Anspruch 20 resorbierbar ausgebildet sind.
22. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 21, dadurch gekennzeichnet, daß sie nach Erstellen von Verbindungskanälen in den subchondralen Raum – Mikrofrakturen, Bohrungen, Stiche – eingesetzt werden.
23. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 22, dadurch gekennzeichnet, daß die mehrschichtigen Materialien zur Abdeckung der Gelenkfläche unterseitig knorpelverdauende Enzyme – Metalloproteinasen, Hyaluronidase, Cathepsine – freisetzen.

24. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 23, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindungskanäle/Bohrungen zwischen Markraum und Gelenkraum durch ein Nagelgitter hergestellt werden.
25. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 24, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindungskanäle zwischen Markraum und Gelenkraum durch eine klettverschlußartige Verankerungsstruktur mit dem darunterliegenden Nagelgitter aufgebracht werden. 5
26. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 25, dadurch gekennzeichnet, daß die Freisetzung der Faktoren nach den Ansprüchen 11 bis 16 aus mesenchymalen Zellen erfolgt. 10
27. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 26, dadurch gekennzeichnet, daß in die Zellen nach Anspruch 26 Gene der bioaktiven Faktoren nach Anspruch 11 bis 16 transfiziert werden. 15
28. Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 27, dadurch gekennzeichnet, daß sie formbare, streichbare oder pastenartige Eigenschaften mit elastischen oder plastischen mechanischen Eigenschaften besitzen. 20
29. Verfahren zur Herstellung chondroinduktiver und implantierbarer Substrate zur Knorpelheilung und -protektion nach den Ansprüchen 1 bis 28, dadurch gekennzeichnet, daß Systeme und Mittel zur Aktivierung 25  
ortsständiger Zellen zur Geweberegeneration sowie Strukturen für die Zelleinwanderung, Zellmatrixbildung und Freisetzung chemotaktischer und differenzierender Faktoren eingesetzt werden.
30. Verfahren nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, dass Verbindungskanäle zwischen Gelenkraum und Knochenmarkraum hergestellt, eine klebrige knorpelfreundliche Schicht auf den arthrotischen Gelenkknorpel gebracht, Zellen aus dem Knochenmark 30  
angelockt und in einer temporären nährenden sowie fördernden Umgebung in der aufgeklebten Schicht zu Knorpelgewebe entwickelt werden. 35
31. Verfahren nach den Ansprüchen 29 und 30, dadurch gekennzeichnet, dass Systeme in Gestalt von Verbindungskanälen zwischen Gelenkraum und Knochenmarkraum als multiple feine Bohrungen/Kanäle 40  
eingesetzt werden, mit denen das Einwandern von Gewebeporläuferzellen aus den umliegenden Geweben induziert und Strukturen für die Zellmatrixbildung ermöglicht werden. 45
32. Verfahren nach den Ansprüchen 29 bis 31, dadurch gekennzeichnet, dass Mittel eingesetzt werden, mit denen eine Gelenkfläche mit mehrschichtigen Materialien abgedeckt wird, die ein Einwachsen und Reifen von Knorpelvorläuferzellen aus dem Knochenmark 50  
induzieren.
33. Verwendung der Substrate nach den Ansprüchen 1 bis 28 in der operativen Medizin und im Tissue Engineering.
34. Verwendung nach Anspruch 33 zur Knorpelheilung und -protektion bei Arthrose. 55
35. Verwendung nach den Ansprüchen 33 und 34 zur Proliferation, Differenzierung und Maturation von Zellen. 60

---

Hierzu 1 Seite(n) Zeichnungen

---

- Leerseite -

**Figur 1**

